



CERTIFICATE OF MAILING (37 CFR 1.8a)

FW

I hereby certify that this paper (along with any paper referred to as being transmitted herewith) is being deposited with the United States Postal Service on the date shown below with sufficient postage as first class mail in an envelope addressed to the: Commissioner for Patents, P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450.

Patricia S. Rocha-Tramaloni
(Print Name)

Date: December 1, 2004

[Signature]
(Signature)

PATENT APPLICATION

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

In re application of:

Group No.: 1743

Remo Anton Hochstrasser, et al.

Serial No.: 10/625,042

Filed: July 22, 2003

For: **METHOD AND DEVICE FOR LOCATING AND CUTTING OUT CONCENTRATIONS IN A GEL**

TRANSMITTAL OF CERTIFIED COPY

December 1, 2004

Commissioner for Patents
P.O. Box 1450
Alexandria, VA 22313-1450

Dear Sir:

Attached please find the certified copy of the foreign application from which priority is claimed for this case:

<u>Country</u>	<u>Application No.</u>	<u>Filing Date</u>
Europe	02078009.4	July 23, 2002

Respectfully submitted,

[Signature]
Patricia S. Rocha-Tramaloni
Attorney for Applicant
Reg. No. 31054
Hoffmann-La Roche Inc.
340 Kingsland Street
Nutley, New Jersey 07110
Phone: (973) 235-2441

PSR-T/bah
Enclosures



THIS PAGE BLANK (USPTO)



**Europäisches
Patentamt**

**European
Patent Office**

**Office européen
des brevets**

Bescheinigung

Certificate

Attestation

Die angehefteten Unterlagen stimmen mit der ursprünglich eingereichten Fassung der auf dem nächsten Blatt bezeichneten europäischen Patentanmeldung überein.

The attached documents are exact copies of the European patent application described on the following page, as originally filed.

Les documents fixés à cette attestation sont conformes à la version initialement déposée de la demande de brevet européen spécifiée à la page suivante.

Patentanmeldung Nr. Patent application No. Demande de brevet n°

02078009.4

Der Präsident des Europäischen Patentamts;
Im Auftrag

For the President of the European Patent Office

Le Président de l'Office européen des brevets
p.o.

R C van Dijk

THIS PAGE BLANK (USPTO)



Anmeldung Nr:
Application no.: 02078009.4
Demande no:

Anmeldetag:
Date of filing: 23.07.02
Date de dépôt:

Anmelder/Applicant(s)/Demandeur(s):

F. HOFFMANN-LA ROCHE AG
124 Grenzacherstrasse
4070 Basel
SUISSE

Bezeichnung der Erfindung/Title of the invention/Titre de l'invention:
(Falls die Bezeichnung der Erfindung nicht angegeben ist, siehe Beschreibung.
If no title is shown please refer to the description.
Si aucun titre n'est indiqué se référer à la description.)

Verfahren und Vorrichtung zum Lokalisieren und Ausschneiden von Anreicherung in einem Gel

In Anspruch genommene Priorität(en) / Priority(ies) claimed / Priorité(s)
revendiquée(s)
Staat/Tag/Aktenzeichen/State/Date/File no./Pays/Date/Numéro de dépôt:

Internationale Patentklassifikation/International Patent Classification/
Classification internationale des brevets:

G01N/

Am Anmeldetag benannte Vertragsstaaten/Contracting states designated at date of
filing/Etats contractants désignées lors du dépôt:

AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR IE IT LI LU MC NL PT SE SK TR

THIS PAGE BLANK (USPTO)

23. 07. 2002

- 1 -

(67)

Verfahren und Vorrichtung zum Lokalisieren und Ausschneiden von Anreicherungen in einem Gel

Die Erfindung bezieht sich auf ein Verfahren zum
5 Positionieren eines Gels gemäss Oberbegriff des
Anspruchs 1. Des Weiteren bezieht sie sich auf Vorrichtungen
zur Durchführung des Verfahrens und auf Vorrichtungen zum
Entnehmen von Gelstücken aus einem positionierten Gel gemäss,
Oberbegriffen der unabhängigen Vorrichtungsansprüche.

10

Insbesondere in der Biotechnologie werden Substanzen in
Substanzgemischen oft dadurch getrennt, dass ihre
unterschiedliche Wanderungsgeschwindigkeit in Gelen
ausgenutzt wird, z.B. durch Chromatographie oder
15 Elektrophorese. Das Resultat einer solchen Trennung liegt in
Form einer ein- oder zweidimensionalen Verteilung von
Anreicherungspunkten der Substanzen in einer Gelschicht vor.
Die Anreicherungspunkte werden durch geeignete Verfahren
markiert, z.B. gefärbt für eine optische Erkennung. Ein
20 gängiger Farbstoff hierfür ist "Coomassie Blue". Nach
Ermittlung der Positionen der Anreicherungspunkte im Gel
werden aus dem Gel die Gelstücke entnommen, in denen die
Anreicherungspunkte liegen und weiteren Analysen- oder
Verarbeitungsschritten zugeführt.

25

Mit dem zunehmenden Bedarf, Verfahren dieser Art
durchzuführen, ergibt sich die Notwendigkeit, die
Durchführung dieser Verfahren zu automatisieren. Unter
anderem wurden dazu computerisierte Verfahren zur Ermittlung
30 definierter Anreicherungspunkte entwickelt und Roboter zum
Ausstechen von Gelstücken. Ein solches Verfahren und eine
Vorrichtung dazu sind aus der WO-A-98/23950 bekannt. Dabei
wird das Gel auf einem dimensionsstabilen Träger
aufgebracht. In einem Beispiel wird dafür eine Glasplatte
35 eingesetzt, deren Oberfläche funktionalisiert ist. Beim

Aufbringen des Gels bilden sich kovalente Bindungen heraus, die das Gel unverrückbar auf der Glasoberfläche festhalten. In einem ersten Schritt werden die Anreicherungspunkte durch Einfärben markiert. Anschliessend werden nach Vorgabe des Benutzers die auszuschneidenden Gelstücke mittels eines Computers elektronisch erfasst. Danach wird die Gelplatte in einen Ausstechroboter (so genannten "Gelpicker") überführt, der die im ersten Schritt definierten Gelstücke heraussticht und in Probegefässe, z.B. die Kavitäten (wells) einer Mikrotiterplatte überführt. Wegen der Fixierung des Gels auf dem Träger kann dabei zwischen dem ersten Schritt und dem zweiten Schritt, dem Ausstechen, eine beträchtliche Zeitspanne vergehen, ohne dass merkliche Abweichungen der Positionen der auszuschneidenden Gelstücke auftreten und dass beabsichtigte Ausstechen der Gelstücke beeinträchtigen, welche die Anreicherungspunkte enthalten.

Nachteilig bei diesem Verfahren ist jedoch gerade die feste Bindung des Gels an den Träger. Dadurch ist es nötig, beim Ausstechen mit einem hohlnadelförmigen Instrument bis zum Aufsetzen auf den Träger durch das Gel hindurchzustechen und danach durch eine seitliche Bewegung oder eine sonstige Massnahme das Gel vom Träger abzuschneiden oder abzuscheren. Wird das Ausstechwerkzeug dann angehoben, so ist auch die Unterseite des Gels direkt der Umgebung ausgesetzt, was zu unerwünschten Reaktionen, z.B. einer Oxidation, führen kann, wenn nicht besondere, aufwendige Vorkehrungen getroffen werden.

Nachteilig beim Verfahren gemäss der WO-A-98/23950 ist ausserdem, dass beim Abtrennen des Gels vom Träger Bestandteile der Verbindungsschicht am Gel haften bleiben und danach bei den weiteren Analyseschritten als Verunreinigung wirken.

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein Verfahren zum Positionieren eines Gelstückes in einem Halter für eine längere Zeit anzugeben, mit dem die oben erwähnten Nachteile beseitigt werden, wobei aber die räumliche Verteilung der Anreicherungspunkte über längere Zeit unverändert bleiben soll.

Ein solches Verfahren ist durch Anspruch 1 definiert. Die weiteren Ansprüche definieren bevorzugte Ausführungsformen, Vorrichtungen zur Durchführung des Verfahrens, Verfahren zum Heraustrennen von Gelstücken aus einer erfindungsgemäss positionierten Gelschicht sowie Vorrichtungen dazu.

Erfindungsgemäss wird ein Gelausschnitt in einen Halter eingelegt und mit Äquilibratorflüssigkeit bedeckt. Die Bedeckung des Gelausschnitts mit der Äquilibratorflüssigkeit ermöglicht das Einstellen eines Gleichgewichts-Quellungsgrades zu erreichen, und dadurch sicher zu stellen, dass die Abmessungen des Gelausschnitts und dadurch die räumliche Verteilung der Anreicherungspunkte über längerer Zeit, z.B. über acht oder mehr Stunden unverändert bleibt. Dies ermöglicht eine treffsichere Entnahme von Gelstücken aus vermessenen Anreicherungspunkte im Gelausschnitt, obwohl das ganze Verfahren vom Vermessen der Lage der Anreicherungspunkte bis zur Entnahme der dort liegenden Gelstücke mehrere Stunden in Anspruch nimmt.

Weitere Vorteile und Eigenschaften von erfindungsgemässen Verfahren und Vorrichtungen gehen aus der nachstehenden Beschreibung von Ausführungsbeispielen hervor, welche Anhand der beiliegenden Zeichnungen erläutert werden. Es zeigen

Fig. 1 eine Draufsicht eines Gelschneiders 11,
Fig. 2 einen Querschnitt des Gelschneiders 11 gemäss
Linie A-A in Fig. 1,

- Fig. 3 eine Draufsicht eines Gelausschnitts 27,
 Fig. 4 einen Querschnitt der Bestandteile eines
 Gelhalters 21,
 5 Fig. 5 einen Querschnitt durch den Gelhalter 21 gemäss
 Fig. 4 mit einem darin angeordneten Gelausschnitt
 27,
 Fig. 6 einen Querschnitt durch den Gelhalter 21 gemäss
 Fig. 4 mit einem etwas kleineren Gelausschnitt als
 in Fig. 5;
 10 Fig. 7 eine perspektivische Ansicht eines
 Ausstechroboters 41,
 Fig. 8 eine perspektivische Ansicht eines
 Ausstechwerkzeugs 51,
 Fig. 9 eine Explosionsdarstellung des Ausstechwerkzeugs
 15 51 in Fig. 8.

Bezugszeichenliste

- | | | |
|----|----|--|
| | 11 | Gelschneider |
| 20 | 12 | Grundplatte |
| | 13 | Erhebung |
| | 14 | Seitenwand |
| | 15 | Ecken |
| | 16 | Messerband |
| 25 | 17 | Schrauben |
| | 18 | Schneidekante |
| | 19 | |
| | 20 | |
| | 21 | Gelhalter |
| 30 | 22 | Grundplatte |
| | 23 | Rahmen |
| | 24 | Kammer zur Aufnahme des Gelausschnitts |
| | 25 | Aufsatzrahmen / Oberteil des Gelhalters 21 |

	26	Schenkel /Klemmteil des Aufsatzrahmens 25
	27	Gelausschnitt
	28	Rand des Gelausschnitts
	29	Unterteil
5	30	
	31	Äquilibrierflüssigkeit
	41	Ausstechroboter
	51	Ausstechwerkzeug
	53	Trägerplatte
10	55	Ausschnitt
	57	Wölbung
	58	Wölbung
	61	Bohrung
	62	Bohrung
15	63	Stirnfläche
	64	Stirnfläche
	65	Flüssigkeit im Ausstecher 66
	66	Ausstecher
	68	Spiralfeder
20	69	Gelstück
	71	Stellring
	72	Klemmschraube
	74	Nut
	76	Zahnleiste
25	77	Träger des Ausstechwerkzeugs 51
	78	Transportarm
	79	ein ausgestossenes Gelstück
	81	Löcher
	82	oberes Ende des Ausstechers 66
30	83	unteres Ende des Ausstechers 66
	91	Mikrotiterplatte

Mit einem zweidimensionalen Polyacrylamidgel wird zum Beispiel eine Mischung von Proteinen aus einer biologischen Probe (z.B. Serum, Zellkultur oder Gewebe) aufgetrennt.

- 5 Durch Anfärben der aufgetrennten Proben werden die Proteine sichtbar gemacht und deren Lage in der Gelschicht durch Absorption, Fluoreszenz, Radioaktivität oder Lumineszenz auf dem Gel ermittelt bzw. erfasst. Je nach Färbe- oder Markierungsmethode wird dafür ein entsprechendes Lesegerät
- 10 z.B. einen Scanner verwendet, um die Lage der Anreicherungspunkte in digitaler Form zur weiteren Verarbeitung ermitteln bzw. erfassen zu können. Die digitalen Daten werden in einer Datenbank abgelegt und können von weiteren Programmen, z.B. für die Steuerung eines
- 15 Ausstechroboters, benutzt werden. Programme dieser Art sind auf dem Markt erhältlich.

- Von entscheidender Bedeutung für die Weiterverarbeitung des Gels ist es, dass die Position der markierten
- 20 Anreicherungspunkte in der Gelschicht über längerer Zeit, z.B. über acht oder mehr Stunden, unverändert gehalten wird. Hierzu wird vorzugsweise das gefärbte und eventuell über längere Zeit versiegelt gelagerte Gel (z.B. in einer Folie eingeschweisst) über mehrere Stunden in einem
- 25 Flüssigkeitsbad äquilibriert. Insbesondere wird dabei abgewartet, bis ein Gleichgewichts-Quellungsgrad erreicht ist. Die Zeitdauer dafür wird empirisch festgelegt.

- Danach wird ein in Fig. 3 gezeigter Gelausschnitt
- 30 einem Gelschneider 11 (nachstehend anhand der Figuren 1 und 2 beschrieben) geschnitten und in den Gelhalter 21 eingelegt. Eine Grundplatte 22 bildet den Boden des Gelhalters 21 aus.

Die Grundplatte 22 ist vorzugsweise transparent und der Gelhalter 21 so geformt, dass er mit kommerziell erhältlichen Abtastgeräten, wie z.B. Flachbettscanner, verwendbar ist. Das Gel kann dazu z.B. mit dem Farbstoff
5 "Coommassie Blue" eingefärbt werden.

Mit einem Scanner (nicht dargestellt) wird ein Bild einer untersuchten Gelschicht aufgenommen, auf einem Bildschirm dargestellt und in Form von digitalen Signalen gespeichert.
10 Mit einem geeigneten Programm werden von einem Anwender Anreicherungspunkte, die sich durch ihre Färbung auszeichnen, auf dem Bildschirm graphisch markiert und damit um ausgestochen zu werden ausgewählt. Gegebenenfalls kann diese Auswahl auch automatisch erfolgen, z.B. in der Art,
15 dass alle Anreicherungspunkte, deren Markierung gewisse Voraussetzungen (Grösse, Intensität) erfüllen, zum Ausstechen markiert werden.

Der Gelhalter 21 wird in den Ausstechroboter 41 überführt.
20 Der Ausstechroboter fährt die ausgewählten Anreicherungspunkte an und sticht die entsprechenden Gelstücke 69 aus dem Gel aus. Sie werden in einen Vorratsbehälter (nicht dargestellt) überführt, z.B. Mikrotiterplatten mit 96, 384 oder 1536 Kavitäten, die
25 einzeln für das Ablegen eines Gelstückes 69 auswählbar sind.

Ausführungsbeispiel eines Gelschneiders

Figuren 1 und 2 zeigen einen erfindungsgemässen Gelschneider
30 11.

Der Gelschneider 11 ist wie folgt aufgebaut: eine Grundplatte 12 weist eine Erhebung 13 auf, die eine rechteckige Seitenwand 14 mit abgerundeten Ecken 15
35 ausbildet. Enganliegend an die Aussenfläche der Seitenwand

14 ist ein metallenes Messerband 16 gelegt und mit Schrauben 17 fixiert. Das Messerband 16 hat eine Schneidekante 18, deren Kontur einer vorgegebenen Kontur eines zu schneidenden Gelausschnitts 27 entspricht.

5

Der Gelausschnitt 27 ist durch Hindurchdrücken der Schneidkante 18 durch das Gel herauszuschneidbar.

Das Messerband 16 kann nicht nur aus Metall, sondern auch aus Glas; Keramik oder Kunststoff bestehen. Ein Messerband aus Glas oder Keramik besteht z.B. aus mehreren streifenförmigen Teilen, die an den Enden übereinander geschoben werden, um diese Teile an die Aussenwand 14 exakt anzulegen. Diese Teile sind z.B. vier rechtwinklig abgewinkelte Leisten, die jeweils an eine Ecke der Erhebung 13 angelegt werden und deren Schenkel sich etwas überlappen.

Das Messerband 16 kann auch als integraler Bestandteil der Erhebung 13 ausgebildet werden. In diesem Fall entfallen die Schrauben 17.

Das Messerband 16 weist vorzugsweise eine scharfe Schneidekante 18 auf, die einen sauberen Schnitt ermöglicht. Es kann jedoch genügen, dass das Messerband 17 hinreichend dünn ausgeführt wird.

Mit der Schneidkante 18 nach unten wird der Gelschneider 11 auf ein Gel aufgelegt und nach unten gedrückt. Dabei wird ein von der Form des Messerbandes 16 vorgegebener Gelausschnitt 27 aus dem Gel herausgeschnitten. Der Gelausschnitt 27 wird dann in den Gelhalter 21 überführt und darin wie unten beschrieben angeordnet.

Fig 7 zeigt einen Ausstechroboter 41 in dem ein Gelhalter 21 angeordnet ist.

Ausführungsbeispiel eines Gelhalters

5 Wie aus Fig. 4 ersichtlich, besteht der Gelhalter 21 im Wesentlichen aus einem Unterteil 29 und einem Oberteil 25.

Das Unterteil 29 besteht aus einem Rahmen 23, an dem eine Grundplatte 22 befestigt ist. Rahmen 23 und Grundplatte 22
10 begrenzen eine Kammer 24 im Unterteil 29. Die Kammer 24 hat eine Bodenfläche und ist zur Aufnahme eines plattenförmigen Gelausschnittes ausgebildet.

Die Grundplatte 22 des Unterteils 29 besteht vorzugsweise
15 wenigstens zum Teil aus einem Material, das für eine Strahlung, insbesondere Licht, transparent ist, die zum elektro-optischen Abtasten bzw. Detektion von Anreicherungspunkten in einem Gelausschnitt 27 verwendbar ist, der im Gelhalter 21 eingelegt ist. Falls eine
20 Durchstrahlung von unten nicht nötig ist, kann die Grundplatte 22 auch licht- bzw. energieundurchlässig oder sogar reflektierend ausgeführt sein.

Das Oberteil ist ein Aufsetzrahmen 25, der ein Klemmteil 26
25 aufweist, das bei auf dem Unterteil 29 aufgesetztem Oberteil 25 in die Kammer hineinragt, so dass ein in der Kammer 24 befindlicher Gelausschnitt 27 zwischen dem Klemmteil 26 und der Bodenfläche der Kammer 24 einklemmbar ist. Das Klemmteil 26 ist eine Leiste, die im Wesentlichen komplementär zur
30 Kontur der Kammer 24 ausgebildet ist, so dass das Klemmteil 26 an den Seitenwänden, welche die Kammer 24 begrenzen, gleitend oder mit geringem Spiel in die Kammer 24 absenkbar ist, so dass sich die Klemmwirkung des Klemmteils 26 linienförmig am Rand 28 eines im Unterteil 29 angeordneten
35 Gelausschnittes 27 einstellt.

Fig. 4 zeigt eine erste Ausführungsform, in der die Kontur der Kammer 24 genau mit der Randkontur der Schneidekante 18 des Gelschneiders 11 übereinstimmt. Ein Gelausschnitt 27, 5 der mittels des Gelschneiders 11 aus einer Gelschicht ausgeschnitten wurde, passt also mit geringem Spiel in diese Kammer.

Fig. 5 zeigt eine zweite Ausführungsform, in der die Kontur 10 der Kammer 24 geringfügig grösser als die Randkontur der Schneidekante 18 ist. In diesem Fall weist ein Gelausschnitt 27 ein geringes Untermass gegenüber der Kammer 24 auf und lässt sich im Unterteil 29 mit einem kleinen Spiel anordnen.

15 In einer dritten Ausführungsform (nicht dargestellt) kann die Kontur der Kammer geringfügig kleiner als die Randkontur der Schneidekante 18 sein. In diesem Fall weist der Gelausschnitt 27 ein geringes Übermass gegenüber der Kammer 24 auf und lässt sich unbeweglich im Unterteil 29 ohne Spiel 20 anordnen, so dass keine weiteren Massnahmen zum Halten des Gelausschnitts nötig sind.

Der Aufsetzrahmen 25 ist im Wesentlichen eine Winkelleiste mit einer Kontur, die exakt der Kontur der Kammer im 25 Unterteil 29 angepasst ist. Der senkrechte Schenkel 26 weist dabei eine Länge auf, dass er, wenn der Aufsetzrahmen 25 auf dem Unterteil 29 aufliegt, auf dem Rand des Gels aufliegt und diesen ein wenig eindrückt. Durch den dabei auf den Rand 28 des Gelausschnitts 27 ausgeübten Druck wird es zusätzlich 30 im Gelhalter 21 unbeweglich gehalten. Diese Massnahme ist insbesondere dann angezeigt, wenn der Gelausschnitt gegenüber den Abmessungen des Rahmens 23 ein geringes Untermass aufweist.

In der in Fig. 5 gezeigten Ausführung, ist der Gelausschnitt 27 mit einer dünnen Schicht Äquilibrierflüssigkeit 31 bedeckt.

5 In der in Fig. 6 gezeigten Ausführung, ist der Gelausschnitt 27 auch mit einer dünnen Schicht Äquilibrierflüssigkeit 31 bedeckt und die Äquilibrierflüssigkeit dringt dabei auch zwischen der Grundplatte 22 und dem Gelausschnitt 27, und , zwischen dem Rahmen 23 und dem Gelausschnitt 27 in einer
10 dünnen Schicht ein, so dass der Gelausschnitt 27 vollständig von Äquilibrierflüssigkeit 31 umgeben ist. Diese Massnahme gewährleistet, dass das Gel einen konstanten Quellungsgrad und damit gleich bleibende Dimensionen aufweist. Dafür ist es jedoch nötig, dass der Gelausschnitt 27 vor dem Scannen
15 genügend lange Zeit in der Äquilibrierflüssigkeit liegt, dass sich dieser Gleichgewichtsstellungsgrad einstellen kann. Vorteilhaft ist dabei, eine wenigstens näherungsweise konstante Temperatur des Gelausschnitt 27 und der Äquilibrierflüssigkeit 31 einzuhalten.

20

Ausführungsbeispiel des Verfahrens zum Positionieren eines Gelausschnitts im einem Gelhalter

Erfindungsgemäss umfasst ein Verfahren zum Positionieren
25 eines Gels in einem Gelhalter grundsätzlich folgende Schritte:

(a) aus dem Gel wird ein Gelausschnitt 27 mit einer Randkontur abgetrennt, die genau oder wenigstens annähernd mit der Kontur der Kammer 24 zur Aufnahme des Gelausschnitts
30 27 im Gelhalter 21 übereinstimmt,

(b) der Gelausschnitt 27 wird in die Kammer 24 eingesetzt wird, und

(c) der Gelausschnitt 27 wird mit einer Äquilibrierflüssigkeit 31 gedeckt.

35

In einer ersten Ausführungsform des oben erwähnten grundsätzlichen Verfahrens passt die Randkontur des Gelausschnitts 27 genau zur Kontur der Kammer 24, so dass wenn der Gelausschnitt 27 in die Kammer 24 eingesetzt wird, er dort praktisch unbeweglich angeordnet ist.

Durch die Bedeckung des Gelausschnitts 27 mit Äquilibrierflüssigkeit 31 wird erreicht, dass die räumliche Ausdehnung und die Lage des Gelausschnitts in der Kammer 24 über längerer Zeit, z.B. acht oder mehr Stunden, unverändert bleibt, so dass vor der Lagerung des Gelausschnitts im Gelhalter 21 bestimmte Koordinaten von ausgewählten Anreicherungspunkten gültig bleiben, und ein treffsicheres Ausstechen von Gelstücken anhand dieser Koordinaten auch nach einer Lagerungszeit von acht oder mehr Stunden sicher gestellt ist. Um sicherzustellen, dass die Lage des Gelausschnitts 27 im Gelhalter unverändert bleibt, enthält der Gelhalter vorzugsweise ein Klemmmittel 26, welches den Randbereich des Gelausschnitts 27 leicht gegen die Grundplatte des Gelhalters 21 drückt.

In einer zweiten Ausführungsform des oben erwähnten grundsätzlichen Verfahrens weist die Randkontur des Gelausschnitts 27 gegenüber der Kontur der Kammer 24 ein geringes Übermass auf, so dass wenn der Gelausschnitt 27 in die Kammer 24 eingesetzt wird, er dort unbeweglich angeordnet ist. Da in diesem Fall der Gelausschnitt 27 ohnehin unbeweglich in der Kammer gehalten wird, sind zusätzliche Massnahmen (wie die Verwendung des oben erwähnten Klemmmittels) zur Fixierung der Lage des Gelausschnitts 27 im Gelhalter 21 nicht erforderlich.

In einer dritten Ausführungsform dieses Verfahrens weist die Randkontur des Gelausschnitts 27 gegenüber der Kontur der Kammer 24 ein geringes Untermass auf, so dass wenn der

Gelausschnitt 27 in die Kammer 24 eingesetzt wird, er in einem Mass im Gelhalter 21 beweglich ist, das kleiner als eine vorgegebene, maximal zulässige Abweichung zwischen einer Ausstechposition im Gelausschnitt 27 und dem
5 Ausstechort in einer Ausstecheinrichtung zulässig ist.

In diesem Fall wird der Gelausschnitt 27 nicht nur mit Äquilibrierflüssigkeit 31 bedeckt, sondern wird von dieser umgeben, was die Haltbarkeit des Gelausschnitts 27 mit
10 unveränderter räumlicher Ausdehnung verbessert. Dass auch in diesem Fall die Lage des Gelausschnitts 27 im Gelhalter unverändert bleibt, wird vorzugsweise durch Verwendung des Klemmmittels 26 sichergestellt, welches den Randbereich des Gelausschnitts 27 leicht gegen die Grundplatte des
15 Gelhalters 21 drückt.

In den oben beschriebenen Verfahren wird der Gelausschnitt 27 mittels eines Gelschneiders 11 aus dem Gel abgetrennt, wobei der Gelschneider eine Schneidkante mit einer Kontur
20 aufweist, die annähernd mit der Kontur der Kammer 24 zur Aufnahme des Gelausschnitts 27 im Gelhalter 21 übereinstimmt, wobei mit dem Ausdruck "annähernd" die genaue Übereinstimmung, ein geringes Untermass oder ein geringes Übermass gemeint sind.

25 In allen oben beschriebenen Verfahrensbeispielen wird der Schnitt des Gelausschnitts 27 durch Auflegen des Gelschneiders 11 auf das Gel durchgeführt.

30 In allen oben beschriebenen Verfahrensbeispielen wird das Gel vorzugsweise bereits vor dem Schneiden in der Äquilibrierflüssigkeit 31 gelagert.

In einer bevorzugten Ausführungsform des Verfahrens wird in
35 den Gelhalter, welcher den Gelausschnitt 27 enthält,

mindestens soviel Äquilibrierflüssigkeit 31 gegeben wird, dass sich über dem Gelausschnitt 27 eine Äquilibrierflüssigkeit-Schicht ausbildet, welche die ganze Oberfläche des Gelausschnitts 27 deckt.

5

Ausführungsbeispiel für das Scannen und für die Auswahl der Ausstechorte

Ein erfindungsgemässer Gelhalter lässt sich in kommerziell erhältlichen Scannern einsetzen, z.B. in Flachbettscanner. Bei entsprechender Ausführung des Gelhalters 21 kann dieser auch in einem spezialisierten Scanner eingesetzt werden, z.B. bei radioaktiver Markierung der Anreicherungspunkte im Gelausschnitt.

15

Für die Auswertung der vom Scanner gelieferten Daten und die manuelle oder automatisierte Auswahl der Anreicherungspunkte, die ausgestochen werden sollen, können an sich vorbekannte Systeme verwendet werden, wie z.B. das in der WO-A-98/23950 beschriebene System.

20

Grundsätzlich wird dabei das vom Scanner erzeugte Bild des Gelausschnitts auf einem Bildschirm dargestellt, gegebenenfalls auch ausschnittsweise und stark vergrößert. Eine Bedienungsperson kann mittels eines Cursors, der vorteilhafterweise die Ausschnittgeometrie des verwendeten Ausstechwerkzeuges nachbildet, auf dem Bildschirm die Anreicherungspunkte anfahren, diese graphisch markieren und damit die Ausstechorte definieren, bzw. auswählen. Wie in der genannten WO-A-98/23950 erwähnt, kann ein Computer aus den mit dem Scanner gewonnenen Bildinformation Konzentrationswerte und andere charakteristische Daten der Anreicherungspunkte ermitteln und auf dieser Basis Ausstechpunkte festlegen.

35

Zur Sicherstellung der mit dem erfindungsgemässen Verfahren
erzielten Vorteile wird der Gelhalter 21 mit dem
Gelausschnitt 27 nach dem Scannen längere Zeit, d.h. über
acht oder mehr Stunden, vorzugsweise in einer geeigneten
5 Umhüllung und temperiert aufbewahrt, um Verlust von
Äquilibrierflüssigkeit zu vermeiden. Dadurch wird vermieden,
dass sich die Ausdehnung des Gelausschnitts 27 mit der Zeit
verändert und dass sich die Positionen der ,
Anreicherungs- punkte relativ zum Gelhalter 21 verschieben.

10

Wie Fig. 7 zeigt, wird zum Ausstechen der Gelhalter 21 in
einem Ausstechroboter 41 platziert. Der Ausstechroboter
weist einen Antrieb auf, der ein Ausstechwerkzeug über dem
Gelausschnitt 27 im Gelhalter 21 an beliebige Positionen
15 verfahren kann. Dieser Antrieb kann manuell oder
vorzugsweise von einem Computer gesteuert werden, in dem die
erforderlichen Steuerdata gespeichert sind oder diese von
einer Steuerenrichtung geliefert bekommt.

20 **Ausführungsbeispiel einer Entnahmeeinrichtung zur Entnahme
von Gelstücken aus einem Gelausschnitt**

Ausgehend vom erfindungsgemässen Gelhalter 21 und der damit
verbundenen Art, die Ausdehnung des Gelausschnittes 27 und
25 damit die Lage von jedem Punkt des Gelausschnittes über
längere Zeiträume unverändert zu halten, wird
erfindungsgemäss zur Entnahme von Gelstücken aus dem
Gelausschnitt 27 ein neuartiges Ausstechwerkzeug 51 mit
Vorteil als Entnahmeeinrichtung verwendet. Ein solches
30 Ausstechwerkzeug ist in den Figuren 8 und 9 dargestellt.

Wie in Figuren 8 und 9 gezeigt, enthält das Ausstechwerkzeug
51 folgende Komponenten:

(a) ein im Wesentlichen rohrförmiges Entnahmemittel 66,
35 das an einem Träger 53 längsbeweglich angeordnet ist und

dessen eines dem Abtrennen dienenden Ende 83 als Ausstechmittel ausgebildet ist,

- (b) eine Feder 68, die sich am Träger 53 und am Entnahmemittel 66 abstützt, so dass das Entnahmemittel 66
5 gegen die Rückstellkraft der Feder 68 aus seiner Ruhelage heraus bewegbar ist.

In einer bevorzugten Ausführungsform ist das Ausstechwerkzeug 51 so eingerichtet, dass in der Ruhelage
10 des Entnahmemittels (66) sein Ende (83), welches das Ausstechmittel bildet, am Weitesten aus dem Träger vorsteht.

Wie in Figuren 8 und 9 gezeigt, befindet sich in einer Trägerplatte 53 ein im Wesentlichen ovaler, länglicher
15 Ausschnitt 55. Von den oberen und unteren Wölbungen 57, 58 geht jeweils eine Bohrung 61 bzw. 62 zur oberen bzw. unteren Stirnfläche 63 bzw. 64. Die Form des Ausschnitts 55 rührt mehr aus der Verwendung eines rotierenden Fräasers für die
Herstellung her als auf einer technischen Notwendigkeit. Der
20 Ausschnitt kann z.B. auch einen rechteckigen Querschnitt aufweisen.

Das Entnahmemittel ist ein Ausstecher 66, der durch die Bohrungen 61, 62 längsbeweglich in vertikaler Richtung (Z-
25 Richtung) geführt wird.

Der Ausstecher 66 ist ein Rohr dessen oberes Ende mit einer Unterdruck-/Überdruckanlage verbunden ist, die eine unter
Unter- bzw. Überdruck stehende Flüssigkeit enthält. Damit
30 ist es möglich, im Ausstecher 66 einen Unterdruck zu erzeugen, um Material in seinem unteren Ende einzusaugen. Durch Einblasen von Luft oder einem anderen Gas ist es umgekehrt möglich, eingesaugtes Material aus dem Ausstecher
66 wieder nach unten hinauszutreiben. Um ein Aufsteigen
35 dieses Materials in die Unterdruck-/Überdruckanlage zu

vermeiden, ist im Ausstecher 66 oder in der Unterdruck-/Überdruckanlage ein Durchflussbegrenzer vorgesehen, der an sich bekannt ist.

- 5 Innerhalb des Ausschnitts 55 umgibt eine Spiralfeder 68 den Ausstecher 66. Die Spiralfeder 68 stützt sich zum einen an der oberen Wölbung 57 und zum anderen an einem Stellring 71 ab. Der Stellring 71 ist auf geeignete Art, z.B. durch eine Klemmschraube 72, auf dem Ausstecher 66 befestigt.

10

Die Spiralfeder 68 ist so dimensioniert, dass sie in Ruhestellung den Stellring 71 leicht gegen die untere Wölbung 58 des Ausschnitts 55 andrückt.

- 15 In einer Längsseite der Trägerplatte 53 befindet sich eine Nut 74, parallel zum Ausstecher 66. In diese Nut ist eine Zahnleiste 76 eingesetzt.

- Das Ausstechwerkzeug 51 wird auf geeignete Art an einem
20 beweglichen Transportarm 78 (Fig. 7) einer X-Y-Z-Transporteinrichtung so angebracht, dass das Ausstechwerkzeug 51 in vertikaler Richtung bewegbar ist, um den Ausstecher durch den Gelausschnitt 27 im Gelhalter 21 hindurch absenken und wieder anheben zu können. Der Aufbau
25 und die Funktion einer X-Y-Z-Transporteinrichtung sind an sich bekannt und daher hier nicht näher beschrieben.

- In der beispielhaften Ausführung wird die Bewegung des Ausstechwerkzeugs 51 in vertikaler Richtung dadurch bewirkt,
30 dass ein Zahnrad (nicht dargestellt) in die Verzahnung der Zahnleiste 76 eingreift, so dass eine Drehung des Zahnrades in die eine oder andere Richtung das Ausstechwerkzeug anhebt bzw. absenkt. Das Ausstechwerkzeug kann z.B. mittels Schrauben, welche durch Löcher 81 eingeführt werden, an
35 einem vertikal beweglichen Schlitten oder Ähnlichem

befestigt sein. Die Bewegung des Ausstechwerkzeugs ist auch erzielbar, in dem Trägerplatte 53 seitlich in Schienen geführt wird, oder durch Befestigung des Ausstechwerkzeuges 51 auf einem Schlitten, der mit einem Antrieb verbunden ist.

5 Das Ausstechwerkzeug kann ebenfalls mittels eines pneumatischen Antriebes in vertikaler Richtung bewegt werden.

In einer erweiterten Ausführung werden gleichzeitig mehrere parallel arbeitende Ausstechwerkzeuge 51 verwendet.

10

Für das Ausstechen wird das Ausstechwerkzeug 51 vom Ausstechroboter 41 durch Bewegen des Armes 78 in X-Richtung und des Trägers 77 des Ausstechwerkzeugs 51 auf dem Arm 78

15 in Y-Richtung an eine vorgegebene Ausstechposition verfahren.

Das Ausstechwerkzeug 51 wird in Z-Richtung nach unten abgesenkt. Dabei trifft das untere Ende des Ausstechers 66

20 zunächst auf eine Schicht Äquilibrierungsflüssigkeit. Beim weiteren Absenken wird vorteilhafterweise dafür gesorgt, dass zunächst eine kurze Säule Äquilibrierungsflüssigkeit 31 in den Ausstecher 66 gelangt. Dazu muss entweder ein Druckausgleich mit der Umgebung erfolgen, oder es kann sogar

25 durch Detektieren des Auftreffens auf die Oberfläche der Äquilibrierflüssigkeit 31 oder bei Unterschreiten einer gewissen Höhe leichter Unterdruck an den Ausstecher 66 angelegt werden.

30 Falls der Ausstecher 66 z.B. eine hohle Nadel aus Metall und somit elektrisch leitfähig ist, wird das Auftreffen des Ausstechers auf die Äquilibrierflüssigkeit 31 zum Beispiel durch Feststellung des Auftretens eines elektrischen Kontaktes zwischen dem Ausstecher 66 und der

Äquilibrierflüssigkeit 31 mittels einer elektronischen Schaltung erfasst.

Beim weiteren Absenken durchstösst das untere Ende 83 des Ausstechers 66 schliesslich den Gelausschnitt 27, wobei ein Gelstück 69 in den Ausstecher 66 hineingeschoben wird. Schliesslich stösst das untere Ende 83 an der Grundplatte 22 an. Da der Ausstecher in der Trägerplatte 53 in Längsrichtung bewegbar ist, ist es dabei nicht nötig, die Bewegung des Ausstechwerkzeuges 51 in Z-Richtung genau beim Auftreffen auf die Grundplatte 22 anzuhalten. Dies ist vorteilhaft, weil dadurch es nicht notwendig ist, das Auftreffen des Ausstechers 66 auf ein festes Hindernis (die Grundplatte 22) zu detektieren, oder den Unterschied zwischen dem Widerstand beim Durchdringen des Gelausschnitts 27 und dem Widerstand beim Auftreffen auf die Grundplatte 22 zu berücksichtigen.

Es ist hingegen auf einfache Weise möglich, das Ausstechwerkzeug 51 soweit nach unten zu bewegen, bis der Stellring 71 eine gewisse Strecke gegen die Kraft der Feder 68 zurückgeschoben ist. Die Bewegung wird dann angehalten, da nun das Ausstechwerkzeug sicher auf der Bodenplatte 5 angekommen ist. Im Unterschied zum Stand der Technik, insbesondere bei der Lösung, bei der das Gel fest mit einem dimensionsstabilen Träger verbunden ist, ist gemäss vorliegender Erfindung damit bereits ein Gelstück vollständig vom Gelausschnitt 27 abgetrennt. Es wird Unterdruck an den Ausstecher 66 angelegt, um noch etwas Äquilibrierflüssigkeit in den Ausstecher 66 hineinzuziehen. Im Ergebnis befindet sich dann ein Gelstück im Ausstecher 66, das sowohl nach oben wie auch nach unten von einer kurzen Säule von Äquilibrierflüssigkeit von der Umgebung getrennt ist, also immer noch von Äquilibrierflüssigkeit umgeben ist.

Ausführungsbeispiel eines Ausstechroboters

Der Ausstechroboter 41 fährt das Ausstechwerkzeug 51 über
5 die Aufbewahrungsgefässe, z.B. über die Kavitäten (wells)
von einer Mikrotiterplatte 91, positioniert es über einem
der Gefässe und stösst den Inhalt des Ausstechers 66 durch
Anlegen von Überdruck nach unten aus. Dabei wird das
Ausstechwerkzeug durch die Äquilibrierflüssigkeit gespült,
10 so dass ein spezieller Spülvorgang bzw. die Verwendung von
einem Ausstecher mit wegwerfbarem Ausstecheinsatz nicht
nötig ist.

Da bei diesem Verfahren jeweils eine gewisse Menge
15 Äquilibrierflüssigkeit aus dem Gelhalter entfernt wird, wird
erfindungsgemäss Äquilibrierflüssigkeit in ausreichendem
Ausmass in den Gelhalter 21 nachgefüllt, um sicher zu
stellen, dass der Gelausschnitt von einer ausreichenden
Menge Äquilibrierflüssigkeit umgeben bleibt.

20 Ein weiterer Vorteil der Erfindung besteht darin, dass in
den Ausstecher 66 keine Luft eingesaugt wird und damit auch
nicht in eines der Gefässe in den Mikrotiterplatten 91
überführt wird.

25 Ausführungsbeispiel eines Verfahrens zur Entnahme von Gelstücken aus einem Gelausschnitt

Erfindungsgemäss umfasst ein Verfahren zum Abtrennen und
30 Entfernen von Stücken aus einem Gelausschnitt 27, der sich
zusammen mit einer Äquilibrierflüssigkeit 31 in einem
Gelhalter 21 befindet, folgende Schritte:

(a) der Gelausschnitt 27 wird in einem Gelhalter 21 so
angeordnet und gehalten, dass sich oberhalb als auch
35 unterhalb des Gelausschnitts 27 zumindest im Bereich der zu

entfernenden Stücke eine Schicht Äquilibrierflüssigkeit 31 befindet,

(b) ein rohrförmiges Entnahmemittel 66 wird mit seinem eine Öffnung aufweisendes Ende 83 durch den Gelausschnitt 27 hindurchgestossen und danach durch Erzeugen von Unterdruck im Entnahmemittel 66 wird ein ausgestochenes Gelstück 69 und nachfolgende Äquilibrierflüssigkeit 31 in das Entnahmemittel 66 eingesaugt, so dass das Gelstück 69 von der Öffnung 83 des Entnahmemittels 66 durch eine Säule der Äquilibrierflüssigkeit 31 getrennt ist.

Beim erfindungsgemässen Verfahren wird der Gelausschnitt 27 im Gelhalter 21 vorzugsweise so angeordnet, dass er in der Äquilibrierflüssigkeit 31 schwimmt und ist daher vom Boden des Gelhalters 21 beabstandet. Zum Abtrennen eines Stückes 69 aus dem Gelausschnitt genügt deshalb das Einstechen eines Ausstechwerkzeuges. Da Äquilibrierflüssigkeit 31 auch unterhalb des Gelausschnitts 27 vorhanden ist, wird beim Ausstechen des Gelausschnitts durch Anlegen eines Unterdruckes im Ausstecher 66 zuerst etwas Flüssigkeit gesaugt, anschliessend wird ein Gelstück 69 ausgestochen, danach noch etwas Flüssigkeit nachgesogen.

Die Säule von nachgesogener Äquilibrierflüssigkeit stellt eine Trennung des aufgenommenen Gelstückes von der Umgebung dar. Oberhalb eines ausgeschnittenen Gelstückes befindet sich ebenfalls eine kleine Säule Äquilibrierflüssigkeit, so dass das Gelstück auch in dieser Richtung von der Umgebung abgeschirmt ist.

30

Im Rahmen des soeben beschriebenen Verfahrens wird vorzugsweise über dem Gelausschnitt 27 eine Schicht der Äquilibrierflüssigkeit 31 aufrechterhalten, so dass beim Durchstossen des Entnahmemittels durch den Gelausschnitt 27 als Erstes eine kurze Flüssigkeitssäule der

35

Äquilibrierflüssigkeit 31 in dem Entnahmemittel aufgenommen wird, so dass nach dem Abtrennen eines Gelstückes 69 auch oberhalb des Gelstückes im Entnahmemittel eine Schicht der Äquilibrierflüssigkeit 31 vorhanden ist.

5

Vorzugsweise werden vor dem Abtrennen der Gelstücke 69 die Orte des Gelausschnittes 27 festgelegt, wo die abzutrennenden Gelstücke liegen, der Gelhalter 21 in eine Entnahmeverrichtung mit mindestens einer Entnahmeeinrichtung 10 51 mit einem Entnahmemittel 66 eingesetzt wird und die Entnahmeeinrichtung 51 an die vorbestimmten Orte des Gelausschnittes 27 positioniert und die Entnahme der Gelstücke 69 durchgeführt wird.

15 Ein abgetrenntes Gelstück 69 wird aus dem Entnahmemittel 66 vorzugsweise durch Erzeugen von Überdruck im Entnahmemittel ausgestossen.

Im Rahmen des oben beschriebenen Verfahrens zum Abtrennen 20 und Entfernen von Stücken aus einem Gelausschnitt 27 wird vorzugsweise ein Gelhalter 21 verwendet, der ein Unterteil 29 und ein Oberteil 25 umfasst, wobei das Unterteil eine Kammer 24 aufweist, die eine Bodenfläche hat und zur Aufnahme eines plattenförmigen Gelausschnittes 27 25 ausgebildet ist, und das Oberteil 25 ein Klemmteil 26 aufweist, das bei auf dem Unterteil 29 aufgesetztem Oberteil 25 in die Kammer hineinragt, so dass ein in der Kammer 24 befindlicher Gelausschnitt 27 zwischen dem Klemmteil 26 und der Bodenfläche der Kammer 24 einklemmbar ist.

30

Ausführungsbeispiel einer Vorrichtung zum Analysieren vorgegebener Bereiche eines Gelausschnittes

Eine Vorrichtung zum Analysieren vorgegebener Bereiche eines 35 Gelausschnittes, insbesondere von Anreicherungspunkten nach

Durchführen einer Gemischtrennung in dem Gel, umfasst folgende Komponenten:

- (a) eine Analysiervorrichtung, in welche einen Gelhalter 21 einsetzbar ist und welche über Mittel verfügt, um die zu analysierenden Gebiete des Gelausschnittes 27 zu detektieren und/oder eine Darstellung des Gelausschnittes zu erstellen, in der für die Analyse in Frage kommende Bereiche erkennbar sind, welche Analysiervorrichtung Mittel zum Markieren der zu analysierenden Bereiche auf einer elektronisch erzeugten Abbildung des Gelausschnittes enthält; und
- (b) eine Entnahmevorrichtung mit einer Aufnahmestelle für den Gelhalter 21 und mit Transportmitteln, um eine Entnahmeeinrichtung 51, welche zum Abtrennen und Entfernen eines Stückes 69 aus einem Gelausschnitt 27 dient, über den ausgewählten, zu analysierenden Bereichen des Gelausschnittes im Gelhalter 21 zu positionieren und sie zum Gelausschnitt 27 hin zu bewegen, so dass das Entnahmemittel jeweils an einem vorgegebenen Ort durch den Gelausschnitt 27 hindurchgetrieben werden kann, um ein Gelstück 69 aufzunehmen.

In einer bevorzugten Ausführungsform ist die Entnahmevorrichtung 51 mit einer Vorrichtung zum Erzeugen von Unterdruck und Überdruck im Entnahmemittel 66 verbunden, so dass durch Unterdruck im Entnahmemittel 66 ein durch das Entnahmemittel abgetrenntes Gelstück 69 in das Entnahmemittel einsaugbar und nach dem Gelstück noch eine bestimmte Menge der Flüssigkeit 31, die das Gelstück umgibt, nachsaugbar ist, und durch Erzeugen eines Überdrucks im Entnahmemittel 66, das mit dem Entnahmemittel aufgenommene Material, insbesondere das Gelstück 69, wieder aus dem Entnahmemittel 66 ausstossbar ist.

In einer bevorzugten Ausführungsform umfasst der Gelhalter 21 ein Unterteil 29 und ein Oberteil 25, wobei das Unterteil eine Kammer 24 aufweist, die eine Bodenfläche hat und zur Aufnahme eines plattenförmigen Gelausschnittes ausgebildet ist, und das Oberteil 25 ein Klemmteil 26 aufweist, das bei 5 auf dem Unterteil 29 aufgesetztem Oberteil 25 in die Kammer hineinragt, so dass ein in der Kammer 24 befindlicher Gelausschnitt 27 zwischen dem Klemmteil 26 und der Bodenfläche der Kammer 24 einklemmbar ist.

10

In einer bevorzugten Ausführungsform enthält die Entnahmeeinrichtung 51 folgende Komponenten:

(a) ein im Wesentlichen rohrförmiges Entnahmemittel 66, das an einem Träger 53 längsbeweglich angeordnet ist und 15 dessen eines dem Abtrennen dienenden Ende 83 als Ausstechmittel ausgebildet ist, und

(b) eine Feder 68, die sich am Träger 53 und am Entnahmemittel 66 abstützt, so dass das Entnahmemittel 66 gegen die Rückstellkraft der Feder 68 aus seiner Ruhelage 20 herausbewegbar ist.

Die vorangehende Beschreibung gestattet dem Fachmann eine Vielzahl Abwandlungen der erfindungsgemässen Vorrichtungen und Verfahren, ohne den Schutzbereich der Erfindung zu 25 verlassen der durch die Patentansprüche definiert ist.

- - - - -

23. 07. 2002

Patentansprüche

(67)

1. Verfahren zum Positionieren eines Gels in einem Gelhalter, dadurch gekennzeichnet, dass
 - 5 (a) aus dem Gel ein Gelausschnitt (27) mit einer Randkontur abgetrennt wird, die genau oder wenigstens annähernd mit der Kontur einer Kammer (24) zur Aufnahme des Gelausschnitts (27) in einem Gelhalter (21) übereinstimmt,
 - (b) der Gelausschnitt (27) in die Kammer (24)
10 eingesetzt wird, und
 - (c) der Gelausschnitt (27) mit einer Äquilibrierflüssigkeit (31) gedeckt wird.
2. Verfahren gemäss Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet,
15 dass die Randkontur des Gelausschnitts (27) gegenüber der Kontur der Kammer (24) ein geringes Untermass aufweist, so dass wenn der Gelausschnitt (27) in die Kammer (24) eingesetzt wird, er in einem Mass im Gelhalter (21) beweglich ist, das kleiner als eine vorgegebene, maximal
20 zulässige Abweichung zwischen einer Ausstechposition im Gelausschnitt (27) und dem Ausstechort in einer Ausstecheinrichtung zulässig ist.
3. Verfahren gemäss Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet,
25 dass die Randkontur des Gelausschnitts (27) gegenüber der Kontur der Kammer (24) ein geringes Übermass aufweist, so dass wenn der Gelausschnitt (27) in die Kammer (24) eingesetzt wird, er dort unbeweglich angeordnet ist.
- 30 4. Verfahren gemäss einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass die Lage des Gelausschnitts (27) in Bezug auf die Kammer (24) mittels eines Klemmmittels (25) fixiert wird.

5. Verfahren gemäss einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass der Gelausschnitt (27) mittels eines Gelschneiders (11) aus dem Gel abgetrennt wird, wobei der Gelschneider eine Schneidkante mit einer Kontur aufweist, die annähernd mit der Kontur der Kammer (24) zur Aufnahme des Gelausschnitts (27) im Gelhalter (21) übereinstimmt.

6. Verfahren gemäss Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, dass der Schnitt des Gelausschnitts (27) durch Auflegen des Gelschneiders (11) auf das Gel durchführbar ist.

7. Verfahren gemäss einem der Ansprüche 1 bis 6, wobei das Gel bereits vor dem Schneiden in der Äquilibrierflüssigkeit (31) gelagert wird.

8. Verfahren gemäss einem der Ansprüche 1 bis 7, wobei in den Gelhalter, welcher den Gelausschnitt (27) enthält, mindestens soviel Äquilibrierflüssigkeit (31) gegeben wird, dass sich über dem Gelausschnitt (27) eine Äquilibrierflüssigkeit-Schicht ausbildet, welche die ganze Oberfläche des Gelausschnitts (27) deckt.

9. Gelhalter zur Durchführung eines Verfahrens gemäss einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass er ein Unterteil (29) und ein Oberteil (25) umfasst, wobei das Unterteil eine Kammer (24) aufweist, die eine Bodenfläche hat und zur Aufnahme eines plattenförmigen Gelausschnittes ausgebildet ist, und das Oberteil (25) ein Klemmteil (26) aufweist, das bei auf dem Unterteil (29) aufgesetztem Oberteil (25) in die Kammer hineinragt, so dass ein in der Kammer (24) befindlicher Gelausschnitt (27) zwischen dem Klemmteil (26) und der Bodenfläche der Kammer (24) einklemmbar ist.

10. Gelhalter gemäss Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet,
dass das Unterteil (29) einen Boden hat, der wenigstens zum
Teil aus einem Material besteht, das für eine Strahlung,
insbesondere Licht, transparent ist, die zur Detektion von
5 Anreicherungspunkten in einem Gelausschnitt (27), der im
Gelhalter (21) eingelegt ist, verwendbar ist.

11. Gelhalter gemäss einem der Ansprüche 9 oder 10, dadurch
gekennzeichnet, dass das Klemmteil (26) eine Leiste ist, die
10 im Wesentlichen komplementär zur Kontur der Kammer (24)
ausgebildet ist, so dass das Klemmteil (26) an den
Seitenwänden, welche die Kammer (24) begrenzen, gleitend
oder mit geringem Spiel in die Kammer (24) absenkbar ist, so
dass sich die Klemmwirkung des Klemmteils (26) linienförmig
15 am Rand (28) eines im Unterteil (29) angeordneten
Gelausschnittes (27) einstellt.

12. Gelschneider zur Durchführung eines Verfahrens gemäss
einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass er
20 eine Schneidekante (18) hat, deren Kontur einer vorgegebenen
Kontur eines zu schneidenden Gelausschnitts (27) entspricht,
so dass der Gelausschnitt (27) durch Hindurchdrücken der
Schneidekante durch das Gel herauszuschneidbar ist.

25 13. Gelschneider gemäss Anspruch 12, dadurch
gekennzeichnet, dass die Schneidekante (18) als eine scharfe
Kante eines Bandes oder einer Umrandung aus mindestens zwei
streifenförmigen Elementen ausgebildet ist, die an der
Aussenfläche einer Erhebung (13) eng anliegend angebracht
30 ist bzw. sind, wobei die Aussenfläche (14) der Erhebung die
Schneidelinie der Schneidekante (18) definiert.

14. Gelschneider gemäss Anspruch 13, wobei das Band bzw.
die streifenförmigen Elemente aus Metall, Keramik, Glas oder
35 Kunststoff besteht bzw. bestehen.

15. Verfahren zum Abtrennen und Entfernen von Stücken aus einem Gelausschnitt (27), der sich zusammen mit einer Äquilibrierflüssigkeit (31) in einem Gelhalter (21) befindet,
- 5 dadurch gekennzeichnet, dass
- (a) sich oberhalb als auch unterhalb des Gelausschnitts (27) zumindest im Bereich der zu entfernenden Stücke eine Schicht Äquilibrierflüssigkeit (31) befindet,
- 10 (b) ein rohrförmiges Entnahmemittel (66) mit seinem eine Öffnung aufweisendes Ende (83) durch den Gelausschnitt (27) hindurchgestossen wird und danach durch Erzeugen von Unterdruck im Entnahmemittel (66) ein ausgestochenes Gelstück (69) und nachfolgende Äquilibrierflüssigkeit (31)
- 15 in das Entnahmemittel (66) eingesaugt wird, so dass das Gelstück (69) von der Öffnung (83) des Entnahmemittels (66) durch eine Säule der Äquilibrierflüssigkeit (31) getrennt ist.
- 20 16. Verfahren gemäss Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, dass über dem Gelausschnitt (27) eine Schicht der Äquilibrierflüssigkeit (31) aufrechterhalten wird, so dass beim Durchstossen des Entnahmemittels durch den Gelausschnitt (27) als Erstes eine kurze Flüssigkeitssäule
- 25 der Äquilibrierflüssigkeit (31) in dem Entnahmemittel aufgenommen wird, so dass nach dem Abtrennen eines Gelstückes (69) auch oberhalb des Gelstückes im Entnahmemittel eine Schicht der Äquilibrierflüssigkeit (31) vorhanden ist.
- 30 17. Verfahren gemäss einem der Ansprüche 15 oder 16, dadurch gekennzeichnet, dass vor dem Abtrennen der Gelstücke (69) die Orte des Gelausschnittes (27) festgelegt werden, wo die abzutrennenden Gelstücke liegen, der Gelhalter (21) in
- 35 eine Entnahmevorrichtung mit mindestens einer

Entnahmeeinrichtung (51) mit einem Entnahmemittel (66) eingesetzt wird und die Entnahmeeinrichtung (51) an die vorbestimmten Orte des Gelausschnittes (27) positioniert und die Entnahme der Gelstücke (69) durchgeführt wird.

5

18. Verfahren gemäss einem der Ansprüche 15 bis 17, dadurch gekennzeichnet, dass ein abgetrenntes Gelstück (69) aus dem Entnahmemittel (66) durch Erzeugen von Überdruck im Entnahmemittel ausgestossen wird.

10

19. Verfahren gemäss einem der Ansprüche 15 bis 18, dadurch gekennzeichnet, dass dabei ein Gelhalter (21) verwendet wird, der ein Unterteil (29) und ein Oberteil (25) umfasst, wobei das Unterteil eine Kammer (24) aufweist, die eine Bodenfläche hat und zur Aufnahme eines plattenförmigen Gelausschnittes (27) ausgebildet ist, und das Oberteil (25) ein Klemmteil (26) aufweist, das bei auf dem Unterteil (29) aufgesetztem Oberteil (25) in die Kammer hineinragt, so dass ein in der Kammer (24) befindlicher Gelausschnitt (27) zwischen dem Klemmteil (26) und der Bodenfläche der Kammer (24) einklemmbar ist.

20. Entnahmeeinrichtung zum Abtrennen und Entfernen eines Stückes aus einem Gelausschnitt (27) bei der Durchführung eines Verfahrens gemäss einem der Ansprüche 15 bis 19, dadurch gekennzeichnet, dass sie folgende Komponenten enthält:

(a) ein im Wesentlichen rohrförmiges Entnahmemittel (66), das an einem Träger (53) längsbeweglich angeordnet ist und dessen eines dem Abtrennen dienenden Ende (83) als Ausstechmittel ausgebildet ist,

(b) eine Feder (68), die sich am Träger (53) und am Entnahmemittel (66) abstützt, so dass das Entnahmemittel (66) gegen die Rückstellkraft der Feder (68) aus seiner Ruhelage herausbewegbar ist.

35

21. Entnahmeeinrichtung gemäss Anspruch 20, dadurch gekennzeichnet, dass in der Ruhelage des Entnahmemittels (66) sein Ende (83), welches das Ausstechmittel bildet, am
5 Weitesten aus dem Träger vorsteht.

22. Vorrichtung zum Analysieren vorgegebener Bereiche eines Gelausschnittes, insbesondere von Anreicherungs Punkten nach Durchführen einer Gemischtrennung in dem Gel,
10 dadurch gekennzeichnet, dass sie folgende Komponenten umfasst:

(a) eine Analysiervorrichtung, in welche einen Gelhalter (21) einsetzbar ist und welche über Mittel verfügt, um die zu analysierenden Gebiete des
15 Gelausschnittes (27) zu detektieren und/oder eine Darstellung des Gelausschnittes zu erstellen, in der für die Analyse in Frage kommende Bereiche erkennbar sind, welche Analysiervorrichtung Mittel zum Markieren der zu analysierenden Bereiche auf einer elektronisch erzeugten
20 Abbildung des Gelausschnittes enthält; und

(b) eine Entnahmevorrichtung mit einer Aufnahmestelle für den Gelhalter (21) und mit Transportmitteln, um eine Entnahmeeinrichtung (51), welche zum Abtrennen und Entfernen eines Stückes (69) aus einem Gelausschnitt (27) dient, über
25 den ausgewählten, zu analysierenden Bereichen des Gelausschnittes im Gelhalter (21) zu positionieren und sie zum Gelausschnitt (27) hin zu bewegen, so dass das Entnahmemittel jeweils an einem vorgegebenen Ort durch den Gelausschnitt (27) hindurchgetrieben werden kann, um ein
30 Gelstück (69) aufzunehmen.

23. Vorrichtung gemäss Anspruch 22, dadurch gekennzeichnet, dass, die Entnahmevorrichtung (51) mit einer Vorrichtung zum Erzeugen von Unterdruck und Überdruck im Entnahmemittel (66)
35 verbunden ist, so dass durch Unterdruck im Entnahmemittel

(66) ein durch das Entnahmemittel abgetrenntes Gelstück (69) in das Entnahmemittel einsaugbar und nach dem Gelstück noch eine bestimmte Menge der Flüssigkeit (31), die das Gelstück umgibt, nachsaugbar ist, und durch Erzeugen eines Überdrucks im Entnahmemittel (66), das mit dem Entnahmemittel aufgenommene Material, insbesondere das Gelstück (69), wieder aus dem Entnahmemittel (66) ausstossbar ist.

24. Vorrichtung gemäss Anspruch 22, dadurch gekennzeichnet, dass, der Gelhalter (21) ein Unterteil (29) und ein Oberteil (25) umfasst, wobei das Unterteil eine Kammer (24) aufweist, die eine Bodenfläche hat und zur Aufnahme eines plattenförmigen Gelausschnittes ausgebildet ist, und das Oberteil (25) ein Klemmteil (26) aufweist, das bei auf dem Unterteil (29) aufgesetztem Oberteil (25) in die Kammer hineinragt, so dass ein in der Kammer (24) befindlicher Gelausschnitt (27) zwischen dem Klemmteil (26) und der Bodenfläche der Kammer (24) einklemmbar ist.

25. Vorrichtung gemäss Anspruch 22, dadurch gekennzeichnet, dass, die Entnahmeeinrichtung (51) folgende Komponenten enthält:

(a) ein im Wesentlichen rohrförmiges Entnahmemittel (66) , das an einem Träger (53) längsbeweglich angeordnet ist und dessen eines dem Abtrennen dienenden Ende (83) als Ausstechmittel ausgebildet ist, und

(b) eine Feder (68), die sich am Träger (53) und am Entnahmemittel (66) abstützt, so dass das Entnahmemittel (66) gegen die Rückstellkraft der Feder (68) aus seiner Ruhelage herausbewegbar ist.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

23. 07. 2002

- 32 -

(67)

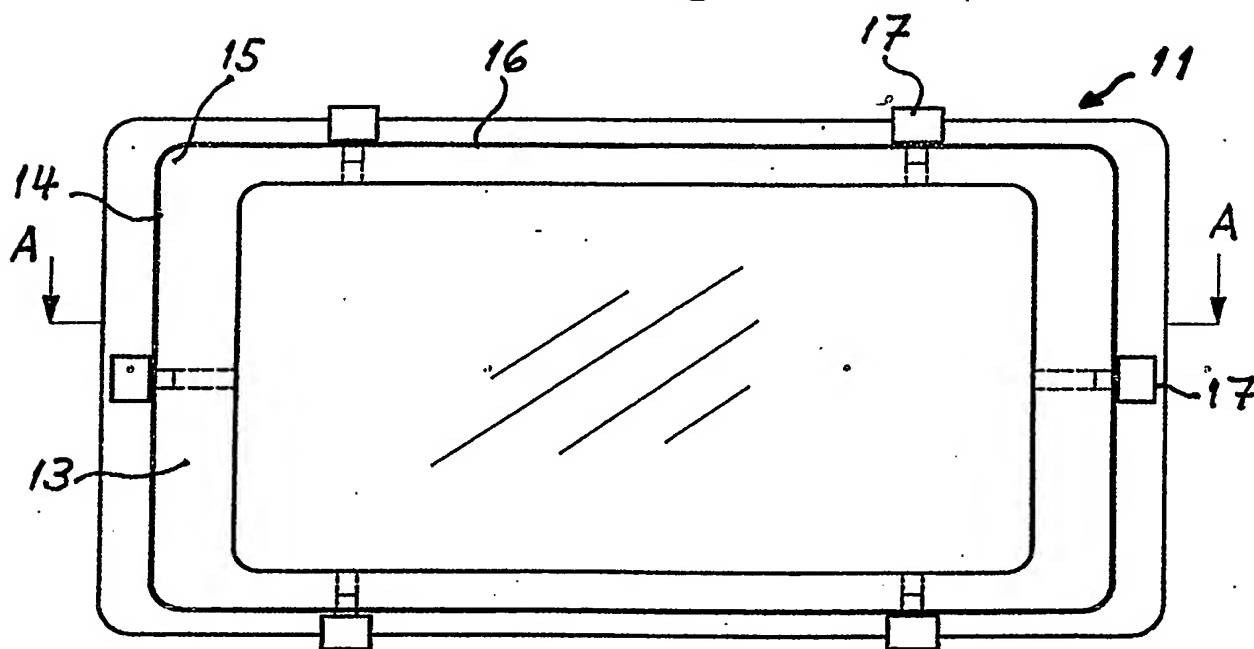
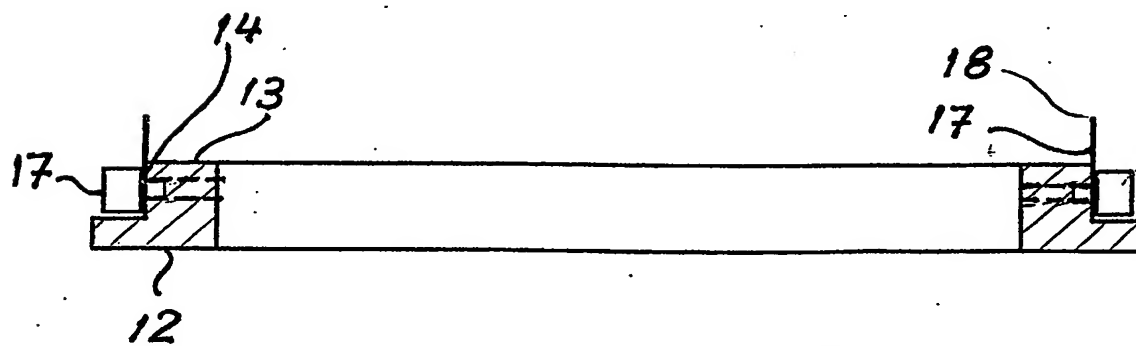
Zusammenfassung

Für das Abtrennen von Gelstücken aus einem Gelausschnitt (27) ist es nötig, zunächst die Position des Gelstückes zu bestimmen, z.B. mit einem Scanner, und nach einer oft 5 Stunden betragenden Unterbrechung die Gelstücke aus dem Gelausschnitt (27) auszusteichen. Der Gelausschnitt (27) muss während dieser Unterbrechung ausdehnungs- und positionsstabil in einem Gelhalter (21) gelagert werden. 10 Dafür wird der Gelausschnitt (27) im Gelhalter schwimmend in einer Äquilibrierflüssigkeit (31) gehalten. Die Äquilibrierflüssigkeit bewirkt, dass sich die Abmessungen des Gelausschnittes während der Unterbrechung nicht verändern. Relativ zum Gelhalter (21) kann der Gelausschnitt 15 (27) einmal dadurch positioniert werden, dass es exakt passend in einer Kammer (24) des Gelhalters (21) , gegebenenfalls mit leichtem Übermass ausgeschnitten wird, und/oder im Randbereich, der für die Auswertung regelmässig unbedeutend ist, durch eine Klemmvorrichtung festgehalten 20 wird. Das Abtrennen von Gelstücken aus dem Gelausschnitt (27) kann bei dieser Art der Halterung auf einfacher Weise mittels eines rohrförmigen Entnahmemittels erfolgen, das durch das Gel hindurchgetrieben wird, da der Gelausschnitt nicht flächig mit dem Gelhalter (21) verbunden ist, sondern 25 vielmehr auf einer dünnen Schicht Äquilibrierflüssigkeit (31) schwimmt.

- - - - -

30 (Figur 5)

THIS PAGE BLANK (USPTO)

*Fig. 1**Fig. 2*

BEST AVAILABLE COPY

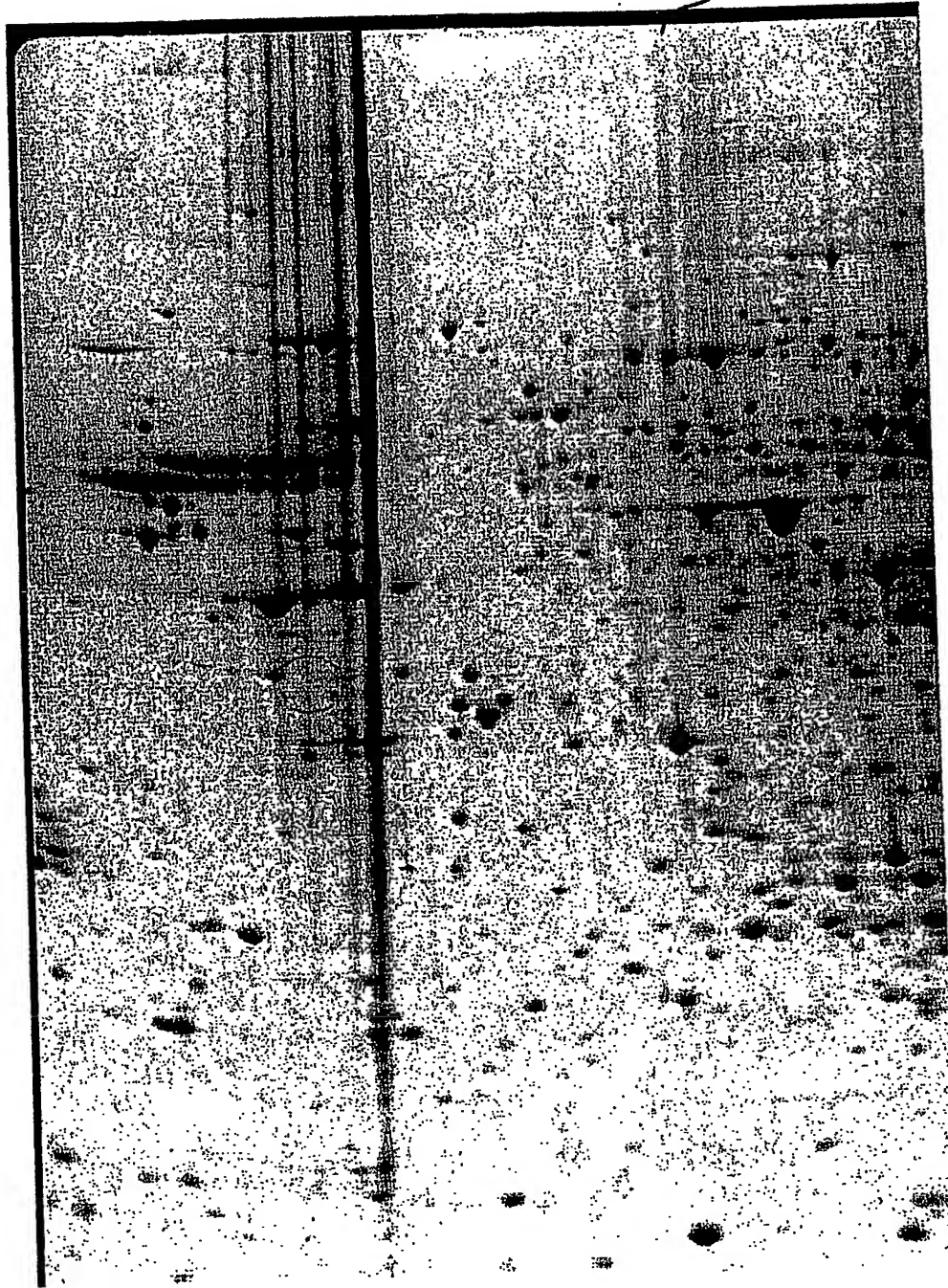


Fig. 3

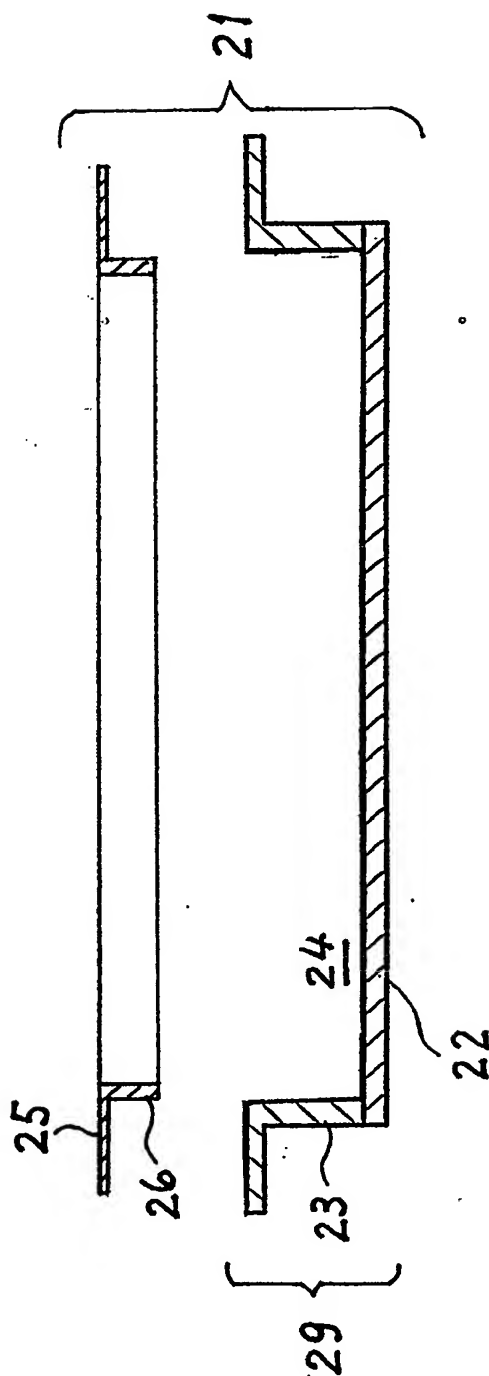


Fig. 4

BEST AVAILABLE COPY

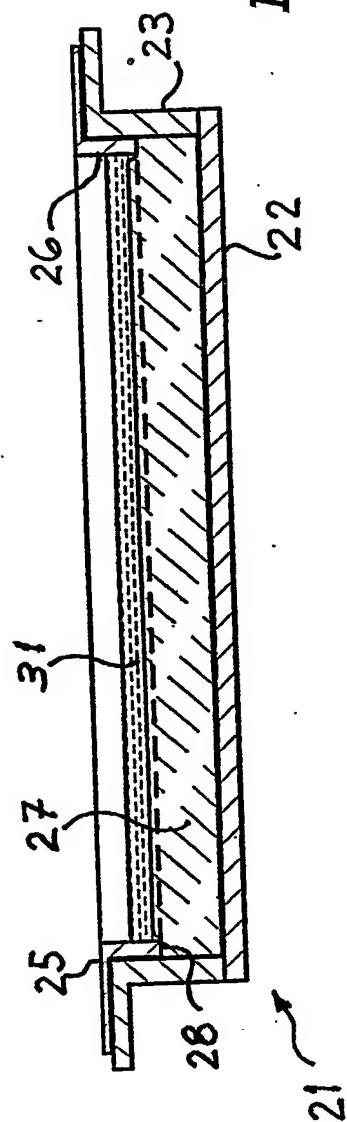


Fig. 5

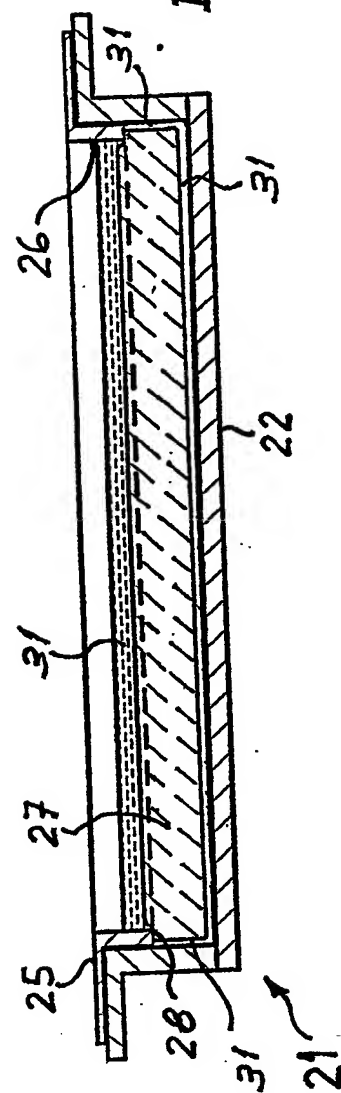
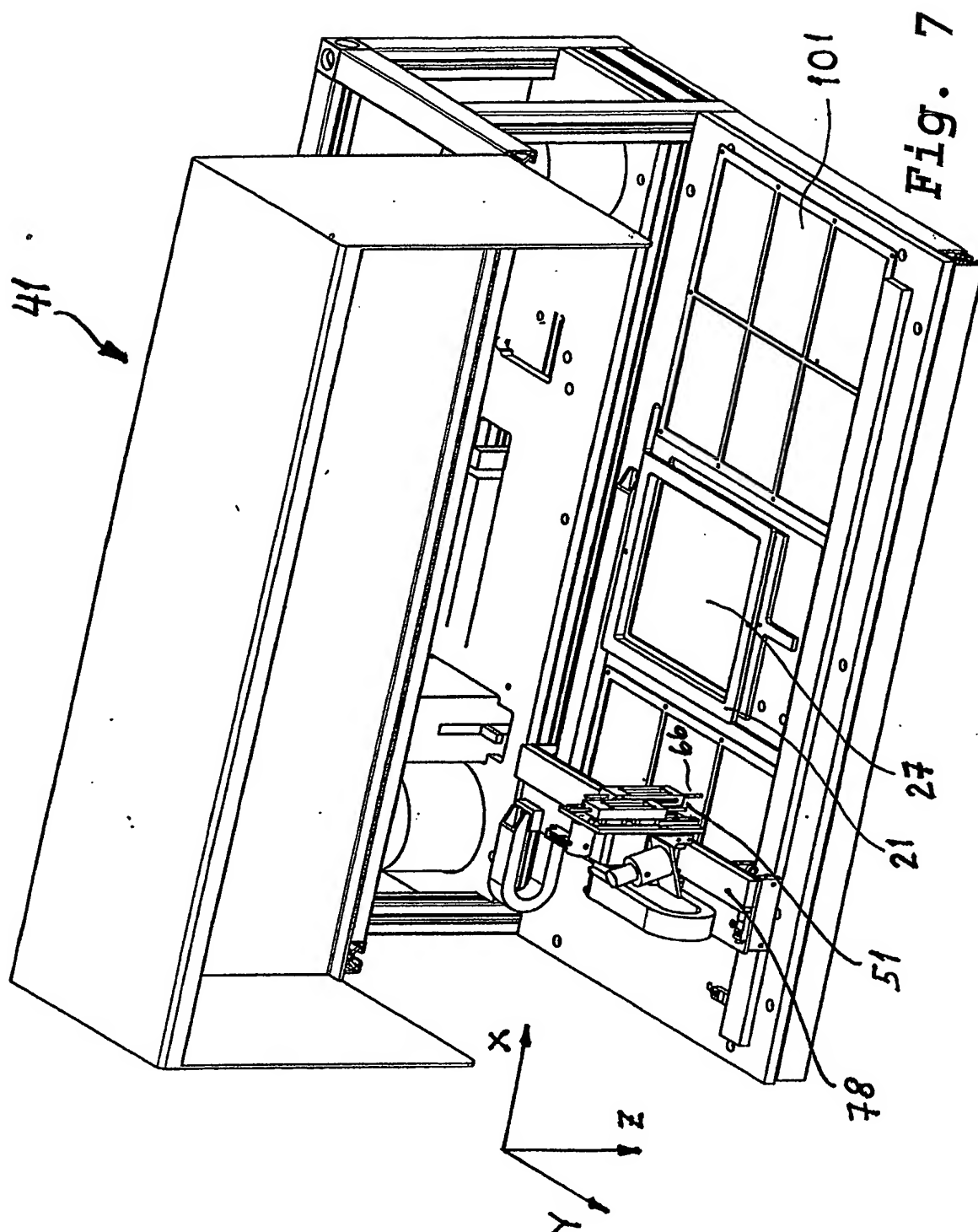


Fig. 6



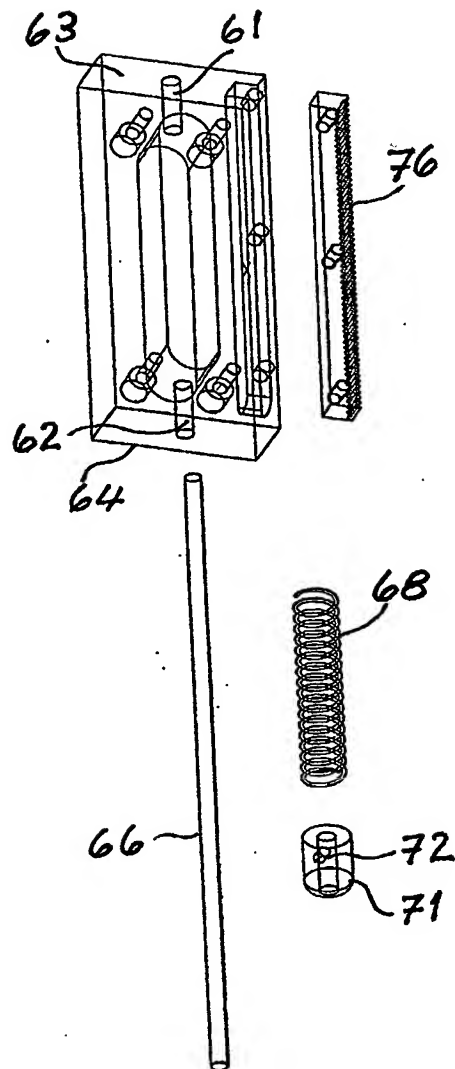


Fig. 9

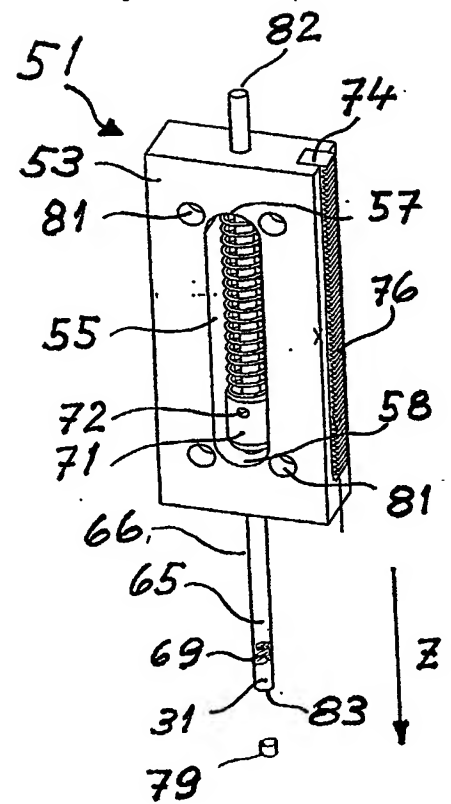


Fig. 8